

动 物 学 研 究 1999, Feb. 20 (1): 32~35 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

32-35

钙离子浓度对暗适应时的中华绒螯蟹光感受器超微结构的影响*

袁维佳 陈 蕾 潘晓震
（上海师范大学生物学系 上海 200234）

张慧绮 盛 春
（上海师范大学实验中心 上海 200234）

摘 要 用透射电镜研究了暗适应时中华绒螯蟹（*Eriocheir sinensis*）的光感受器超微结构与外界钙离子浓度的关系。结果显示出与培育在生理溶液中的光感受器相比，细胞外钙离子浓度升高，使得感杆束的直径急剧缩小，感杆束周围胞质增厚、胞饮泡增加，膜下潴泡囊极度减小。胞质中多囊体的数量和直径减小，而板膜体和溶酶体的数量增加。同时细胞内的色素颗粒增多、分布在小网膜细胞的远端。细胞的结构表现为类似光适应状态。与之相反、细胞外钙离子浓度降低时小眼的感杆束、膜下潴泡囊和多囊体的直径增大，胞饮泡数量下降，色素颗粒分布在细胞的近端。

关键词 中华绒螯蟹，光感受器，超微结构，钙离子
中图分类号 Q959.223

节肢动物光感受器的结构与光照有关。在光适应和暗适应两种不同的状态下，光感受器的超微结构和细胞内的胞器种类和数量都有变化（Eguchi 等，1967；Stowe，1981；Herman，1991）。电生理学的研究发现，在暗适应时光感受器对光的敏感性升高，对光刺激的反应变大，而光适应时正相反（Stieve 等，1991）。研究也表明，光适应或暗适应时光感受器细胞内的钙离子浓度不同，光照可引起鲎腹神经光感受器中钙离子浓度的成倍上升（Deckert 等，1991；Stieve 等，1994），从而造成了光感受器的光适应。

有关钙离子在动物光感觉生理中作用的研究主要集中在对有关酶反应链的活性、离子通道活性的调节以及对电生理反应影响等方面，而对光感受器结构的作用研究较少（Stowe，1983）。我们用中华绒螯蟹（*Eriocheir sinensis*）为材料，通过改变细胞外钙离子浓度的方法，从而改变细胞内的钙离子浓度，研究感光细胞的超微结构变化。我们的研究结果可从结构上解释一些电生理研究中发现的一些现象，从而为全面研究和探讨钙离子在光感觉生理中的作用提供资料。

1 材料和方法

实验用的中华绒螯蟹从农贸市场购得，为安徽的人工饲养品种，每只重 100~150 g。在实验室黑暗中饲养 1 d 后，即在红灯光下从眼柄处取下复眼。复眼在黑暗中分别在以 Stowe 方法配制、pH 为 7.3 的生理溶液（单位：mmol/L，NaCl 400，KCl 10，$CaCl_2$ 2，$MgSO_4$ 2，葡萄糖 50，Hepers 10）、高钙溶液（在生理溶液中加入 50 mmol 的钙离子）和低钙溶液（在生理溶液中加入 50 mmol 的 EGTA）中培养 24 h。然后用 2.5% 戊二醛（0.2 mol/L pH7.2 磷酸缓冲液配制）固定，1% 锇酸（0.2 mol/L pH 7.2 磷酸缓冲液配制）作后固定。经常规电镜样品处理、制片和染色后，在高压（75 kV）下用 Hitachi H-600 透射电镜观察。

2 结 果

2.1 生理溶液

暗适应时光感受器感杆束的直径较大，平均达到了 7 μm，组成的微纤毛除了边缘有部分的膨大外，其余的都结构紧密，排列整齐。感杆束周围的细胞质较薄，里面所含的胞饮泡数量很少。膜下潴泡囊围绕在感杆束的周围，空腔较大，直径达到 1 μm（图版 I 1）。

小网膜细胞的胞质均匀，含有较少的空泡。光

* 国家自然科学基金和上海市科委归国人员科研资助费资助项目
本文 1998-04-03 收到，1998-08-11 修回

滑内质网呈椭圆囊状，位于膜下潴泡囊的周围。细胞质中线粒体分布较散，为椭圆形，里面的嵴突较少，基质为电子透明物质。颗粒内质网长短不一，散布在胞质中。多囊体的数量较多，直径在0.3～1.1 μm之间，所含的小囊泡多数为圆形。在细胞质中也有与这种小囊泡类似的结构（图版Ⅰ2）。板膜体数量少，主要分布在细胞的端部。另外在胞质中还有大的囊泡，在远离感杆束的部位，里面除了有一些小颗粒外，其余呈电子透明状。在靠近细胞核处的小网膜细胞之间有色素颗粒细胞和反射细胞的突起伸人（图版Ⅰ3）。

2.2 高钙离子溶液

实验溶液中钙离子浓度的升高对光感受器超微结构的影响见表1。暗适应的光感受器结构显示出，感杆束的直径明显减小，组成的微纤毛大部分膨大，排列较凌乱（图版Ⅰ4）。感杆束的周边胞质较厚，部分与细胞体连在一起。感杆束的基部具有较多的胞饮泡和大量的小囊泡，并有类似多囊体的结构出现（图版Ⅰ4）。膜下潴泡囊的腔缩小，平均直径只有0.2 μm。

表1 不同钙离子浓度光感受器超微结构的比较（$n=6$）

Table 1 Comparison of the fine structure of the photoreceptor in the solution with different calcium concentration ($n=6$)

实验溶液 (solution)	感杆束直径/μm (rhabdom diameter)	膜下潴泡囊直径/μm (perirhabdomal vacuoles diameter)	多囊体直径/μm (multivesicular body diameter)	板膜体数量 (number of lamellar bodies)	溶酶体数量 (number of lysosomes)
生理溶液 (physiological saline)	7±2.2	1±0.4	0.6±0.19	1～3	1～2
高钙溶液 (high calcium concentration solution)	3±0.4	0.2±0.07	0.4±0.12	2～4	>10
低钙溶液 (low calcium concentration solution)	9±1.2	1±0.3	0.7±0.23	1～2	0～1

细胞质中有大量的色素样颗粒，直径小的色素样颗粒有些分布到了感杆束周边的胞质中。颗粒内质网长，在一些部位中排列较整齐。线粒体为椭圆形，直径的变化范围较大。多囊体的数量较少，直径约在0.4 μm。多囊体里面所含的小囊泡挤在一起，其形状大多是不规则形，大小变化很大（图版Ⅱ5）。胞质中含有较多的小空泡，形状大小差异很大。另外感杆束的周围和胞质中还有许多小囊泡，其形态与多囊体所含的小囊泡相似。板膜体的数量增加，有的除了几层叠在一起的膜外，还含有一些内含物为电子透明的泡。溶酶体的数量较多，基本都是具有电子致密小颗粒的结构。

2.3 低钙离子溶液

暗适应的光感受器在低钙离子溶液中显示出与在生理溶液中相似的结构。但是光感受器的感杆束直径增大，平均达到了9 μm，里面的部分微纤毛直径膨大，排列凌乱（图版Ⅱ6）。感杆束周边的胞质较薄，含有一些小的囊泡。膜下潴泡囊的空腔增加很多，相互之间的间隔较薄，空腔的直径达1 μm，围绕着整个感杆束。

小网膜细胞的胞质均匀，所含有的空泡较少。光滑内质网短，不膨大成囊状，主要集中在膜下潴泡囊的周围。颗粒内质网长而凌乱，遍布整个细胞，在小网膜的近端排列略为整齐，有些内质网的端部有些膨大。线粒体为椭圆形，直径较大，主要集中在细胞的中段和近端。多囊体数量较多，大小变化较大。里面所含的小囊泡大多数是圆形。在胞质中有一些板膜体和少量的溶酶体（图版Ⅱ7）。色素样颗粒在小网膜的近端大量出现，分布在整个胞质中（图版Ⅱ8）。色素颗粒细胞的突起也在小眼的中段和近端可看到。

3 讨论

实验所用的溶液按照Stow（1982）的配方配制，高钙溶液和低钙溶液中的渗透压大于生理溶液的渗透压。但是，培育在高钙溶液和低钙溶液中的光感受器显示出截然不同的结构特征，而在生理溶液和低钙溶液中的光感受器的结构很相似。结果说明，这些结构变化是钙离子浓度变化引起的，与实验溶液中渗透压的改变无关。

细胞外的钙离子可通过细胞膜上的 Na/Ca 交换而进出细胞。用钙离子敏感的电极测量发现，当细胞外的钙离子浓度改变时，细胞内的钙离子浓度也会随之发生变化（Lvey 等，1985）。电生理学的研究证明，细胞处于光适应状态，细胞内的钙离子浓度升高，光感受器对光刺激的敏感性下降，产生的电反应信号变小。细胞处于暗适应状态，细胞内钙离子浓度下降，光感受器对光刺激的敏感性升高，产生的反应信号增大（Lisman, 1976; Levy 等，1985; Stieve 等，1989）。我们最近的研究也发现，细胞内外钙离子浓度还影响感光器的光适应（袁维佳等，1998）。光适应和暗适应对光感受器的影响还表现在光感受器的超微结构上，光照可使感杆束的直径和里面的微纤毛的直径及排列发生变化，色素样颗粒的分布位置以及一些细胞器的数量发生改变（Eguchi 等，1967; Stowe, 1981; Eakin 等，1985; 袁维佳等，1997, 1998）。我们在以前的研究中发现，自然状态下中华绒螯蟹的感杆束直径在夜晚时最大，中午时最小，黎明和黄昏时处于两者之间。与之相似，感杆束中的微纤毛的排列，在夜晚时排列最整齐。

本次实验的结果显示出排除光照因素，细胞内钙离子浓度的变化可直接影响光感受器的超微结构。在自然状态中，黎明时蟹小眼感杆束中的部分微纤毛排列凌乱。钙离子浓度升高时，处于黑暗中的光感受器结构表现出光适应时的结构特征，感杆束中的微纤毛明显膨大，排列凌乱，感杆束的直径缩小。降低细胞外钙离子浓度，使得感杆束的直径增加。感杆束被认为是光感受器的感光部分，光电转换在感杆束中实现。感杆束直径和结构与钙离子浓度的这种关系，可从结构上解释光、暗适应时光感受器的敏感性变化。另外，在电生理学研究时发现的光感受器中钙离子浓度的回复快于细胞的光敏感性回复的现象，也可用本实验的结果来解释。

在钙离子浓度高时，光感受器结构的另一个显著特征是感杆束周围的胞饮泡增多，胞质中的溶酶体和板膜体的数量增加。感杆束中的微纤毛的合成和降解都需要酶的参与，溶酶体在这过程中起了重要的作用，板膜体已被证实含有过氧化酶和酪氨酸酶（Schraermeyer, 1992）。在高钙离子溶液中微纤毛基部的胞饮泡明显增多，感杆束周围的胞质中小囊泡的数量也增多。可能是通过微纤毛分解而形成众多的小囊泡使感杆束降解。

高钙离子溶液中的光感受器结构与生理溶液和低钙溶液中的结构不同的又一个特征，被认为是钙离子储存器的胞器，如膜下潴泡囊、线粒体等结构的直径减小。这与在光适应时观察到的结果一致。钙离子储存器被看作是细胞内的钙离子浓度的调节器，通过向胞质中释放钙离子或储存钙离子，这些胞器调节了细胞中的钙离子浓度。在钙离子浓度升高时这些钙离子储存器的直径减小，说明钙离子从储存器中释放可能是受酶控制的，而这个酶的活性与细胞内的钙离子浓度有关（Rack 等，1994）。

本实验的结果说明：钙离子不仅影响光感受器中光激活的酶反应链的活性，从而影响光感受器的生理活动；也可能通过对酶活性的影响改变感受器的结构，从而影响感受器的生理功能。

图 版 说 明

图版Ⅰ和图版Ⅱ（Plate Ⅰ and Ⅱ）

1～2. 在生理溶液中暗适应的中华绒螯蟹光感受器小网膜细胞横切（the cross section of dark adapted retinular cell incubated in physiological saline）；

3. 在生理溶液中暗适应的小眼横切（the cross section of dark adapted ommatidia incubated in physiological saline）；

4～5. 在高钙溶液中暗适应的小网膜细胞横切（the cross section of dark adapted retinular cell incubated in higher calcium concentration solution）；插图所示分别为微纤毛基部及多囊体（inset shows respectively below the rhabdom and multivesicular body）；箭头分别指胞饮泡和小囊泡（arrow shows respectively pinocytotic vesicles and small vesicles）；

6～7. 在低钙溶液中暗适应的小网膜细胞横切（the cross section of dark adapted retinular cell incubated in lower calcium concentration solution）；

8. 在低钙溶液中暗适应的小网膜细胞近端横切（the cross section of proximal region of dark adapted retinular cell incubated in lower calcium concentration solution）；

rh：感杆束（rhabdom）；prv：膜下潴泡囊（perirhabdomal vacuole）；m：线粒体（mitochondria）；mvb：多囊体（multivesicular body）；ger：颗粒内质网（granular endoplasmic reticulum）；rc：小网膜细胞（retinular cell）；pc：色素颗粒细胞（pigment cell）；rpc：反射细胞（reflecting pigment cell）；p：色素样颗粒（pigment-like granules）；v：小囊泡（small vesicles）；lb：板膜体（lamellar body）；l：溶酶体（lysosome）；er：光滑内质网（endoplasmic reticulum）。

标尺（bar）：1、2 = 1 μm；3 = 5 μm；4 = 0.5 μm

标尺（bar）：5，8 = 0.5 μm；6 = 2 μm；7 = 1 μm

参 考 文 献

袁维佳，汪 琴，胡珣韵等，1997 中华绒螯蟹光感受器超微结构在昼夜光周期中的变化．动物学报，43(4)：344－352．[Yuan Wei-jia, Wang Qin, Hu Xun-yun, 1997 Ultrastructure changes of the photoreceptor in the crab *Eriocheir sinensis* by diurnal photoperiodism, 43(4)：344－352．]

袁维佳，胡珣韵，汪 琴等，1998 不同光适应的中华绒螯蟹光感受器超微结构在昼夜光周期中的变化．上海师范大学学报，27(1)：68－76．[Yuan Wei-jia, Hu Xun-yun, Wang Qin, 1998. Changes of fine structure of the photoreceptor in different light adapted crab during diurnal photoperiodism. *Journal of shanhai Normal University*, 27(1)：68－76．]

袁维佳，Stieve H，1998．细胞内外钙离子浓度对鲎腹神经感光器光适应的影响．动物学研究，19(5)：367～373．[Yuan Wei-jia, Stieve H, 1998. The influence of entra-and iutracetcular calrium on the adaptation of *Limulus polyphemus* ventral nerve photoreceptors. *Zoological Research*, 19(5)：367－373]

Deckert A, Stieve H, 1991 Electrogenic Na/Ca exchange, the calcium link between intra-and extracellular of the *Limulus* ventral nerve photoreceptor. *J. Physiol.* (Lond), 433：467－482.

Eguchi E, Waterman T H, 1967. Changes in retinal fine structure induced in the crab *Libinia* by light and dark adaptation. *Z. Zellforsch*, 79：209－229.

Eakin R M, Brandenburger J L, 1985. Effects of light and dark on photoreceptors in the polychaete annalid *Nereis limmcola*. *Cell Tissue Res.*, 242：613－622.

Herman K G, 1991. Light-stimulated rhabdom turnover in *Limulus* ventral photoreceptors maintained *in vitro*. *J. Comp. Neurol.*, 303：11－21.

Levy S, Fein A, 1985. Relationship between light sensitivity and intracellular free calcium concentration in *Limulus* ventral photoreceptors. *J. Gen. Physiol.*, 85：805－841.

Lisman J E, 1976. Effect of removing extracellular Ca on excitation and adaptation in *Limulus* ventral photoreceptors. *Biophys. J.*, 16：1331－1335.

Rack M, Xhonneux-Cremers B, Schraermeter U *et al*, 1994. On the Ca^{2+}-dependence of inositol-phospholipid phospholipase C of microvillar photoreceptors from *Spepia officinalis*. *Exp. Eye Res.*, 58：659－664.

Schraermeyer U, 1992 Effects of chloroquine on the photosensory membrane turnover and the ultrastructure of lysosome-related bodies on the crayfish photoreceptor. *Z. Naturforsch.*, 47c：420－428.

Stieve H, Schlosser B, 1989. The light energy dependence of the *Limulus* photoreceptor current in two defined states of adaptation. *Z. Naturforsch.*, 44c：999－1014.

Stieve H, Reuss H, Hennig H T *et al*, 1991 Signle photon evoked events of the ventral nerve photoreceptor cell of *Limulus*. facilitation, adaptation and dependence on lowered external calcium. *Z. Naturforsch.*, 46c：461－486.

Stieve H, Rusing G, Yuan W *et al*, 1994. The effects of externally applied litzium and strontium on the arsenazo-monitored cytosolic calcium signal of the *Limulus* ventral nerve photoreceptor. *Z Naturforsch*, 49c：372－392.

Stowe S, 1981. Effects of illumination changes on rhabdom synthesis in a crab *J. Comp Physiol.*, 142：19－25.

Stowe S, 1983 Light-induced and spontaneous breakdown of the rhabdoms in a crab at dawn；depolarisation versus calcium levels. *J. Comp. Physiol.*, 153：365－375.

EFFECTS OF CALCIUM CONCENTRATION ON THE FINE STRUCTURE OF DARK ADAPTED PHOTORECEPTORS IN THE CRAB (*Eriocheir sinensis*)

YUAN Wei-jia CHEN Lei PAN Xiao-zhen

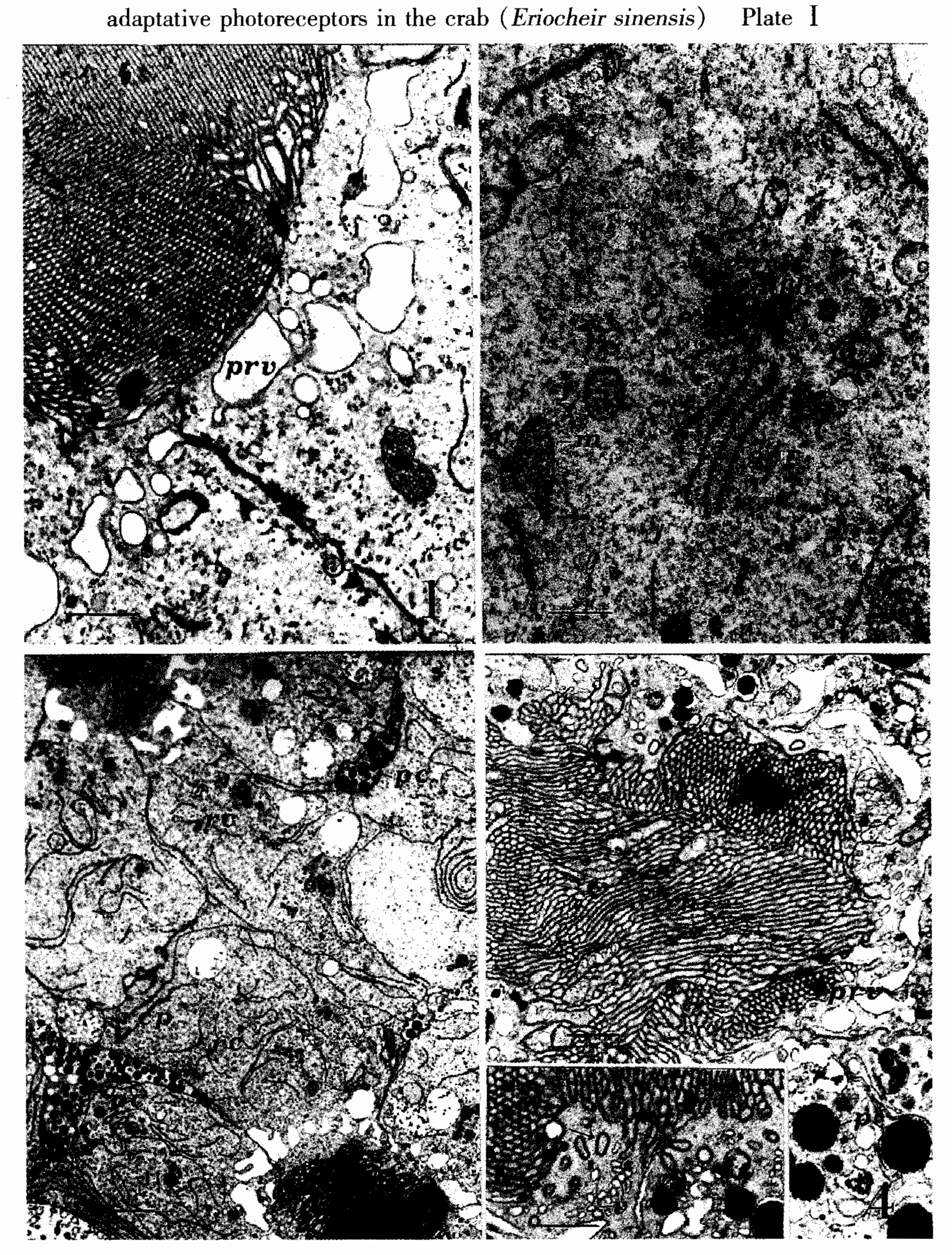
(*Department of Biology, Shanghai Normal University, Shanghai* 200234)

ZHANG Hui-qi SHENG Chun

(*Experimental Centre, Shanghai Normal University, Shanghai* 200234)

Abstract The relationship of extracellular Ca concentration and the fine structure of dark adapted photoreceptors in the crab (*Eriocheir sinensis*) was studied with electron microscopy. The results showed that *in vitro*, in presence of 50 mmol/L calcium, the diameter of rhabdoms and the dimension of perirhabdomal vacuoles extremely reduced than that of photoreceptor incubated in physiological saline. The dimension of the cytoplasm, located around the rhabdom, increased in the higher extracellular Ca solution. Meanwhile, like the morphological structure of the retinular cells during light adaptation, the pinocytotic vesicles were more, the diameter and number of multivesicular bodies reduced, while the number of lamellar bodies and lysosomes increased in the retinula. The pigment granules were more and located in distal part of the retinular cell. However, in presence of 50 mmol/L EGTA and 2 mmol/L calcium, the diameter of the rhabdoms, the dimensiom of perirhabdomal vacuoles and the number of multivesicular bodies was increased, but the pinocytotic vesicles were few and the pigment granules located in the proximal region.

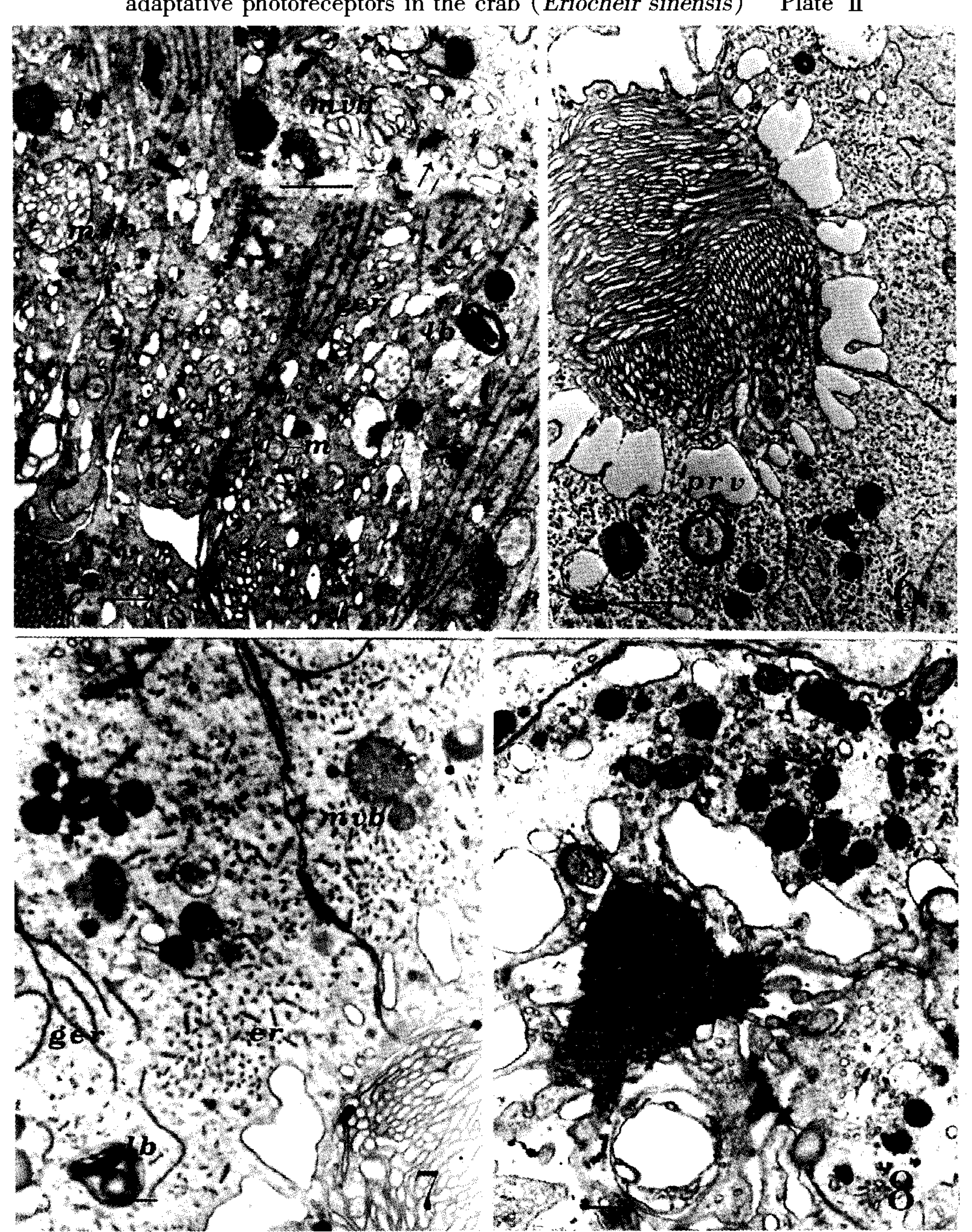
Key words *Eriocheir sinensis*, Photoreceptor, Ultrastructure, Calcium



（图版说明在正文内）

袁维佳等：钙离子浓度对暗适应时的中华绒螯蟹光感受器超微结构的影响　　图版 Ⅱ

YUAN Wei-jia *et al* :Effects of calcium concentration on the fine structure of dark adaptative photoreceptors in the crab (*Eriocheir sinensis*)　Plate Ⅱ



(图版说明在正文内)